

PEMBUATAN MINYAK NILAM DENGAN METODE FERMENTASI

Sri Rulianah

Jurusan Teknik Kimia, Politeknik Negeri Malang

Jl. Soekarno Hatta No 9 Malang

e-mail: rulianahpolinema@yahoo.com

Abstrak

Nilam (Pogostemon cablin benth) adalah suatu tanaman tropis penghasil minyak atsiri (minyak nilam) yang banyak tumbuh di beberapa daerah dan merupakan produk ekspor andalan minyak atsiri bagi Indonesia, dimana minyak nilam banyak digunakan untuk industri parfum dan aroma terapi. Saat ini, minyak nilam banyak diproduksi dengan menggunakan proses ekstraksi dan distilasi, dimana melalui proses tersebut diperoleh rendemen yang rendah dan kualitas yang kurang baik.

*Penelitian bertujuan untuk mengetahui pengaruh perlakuan jenis daun nilam dan waktu fermentasi terhadap kualitas minyak nilam dengan menggunakan kapang. Percobaan dilakukan dengan cara : daun nilam basah dan kering masing-masing di biodelignifikasi menggunakan kapang *Phanerochaete chrysosporium* selama 2, 4, 6, 8, dan 10 hari, dilanjutkan dengan fermentasi menggunakan kapang *Trichoderma viride*. Minyak nilam yang dihasilkan dilakukan pengujian terhadap kadar Patchouli alcohol (PA), indeks bias dan kadar lemak. Hasil penelitian menunjukkan bahwa produk terbaik didapat pada pemakaian daun nilam kering dengan metode fermentasi semi padat, waktu biodelignifikasi dengan *Phanerochaete chrysosporium* selama 10 hari dan fermentasi *Trichoderma viride* selama 6 hari serta pemberian nutrisi berlebih, perendaman selama 24 jam menggunakan heksan dan pemurnian dengan etanol menghasilkan minyak nilam dengan kadar PA 94.75%, indeks bias tertinggi 1.50415, kadar lemak negatif.*

Kata kunci : minyak nilam, fermentasi, biodelignifikasi

1. PENDAHULUAN

Essential Oil yang disebut juga minyak atsiri, minyak eteris atau minyak terbang banyak diperlukan dalam kehidupan sehari-hari, antara lain: bahan pengharum atau pewangi pada makanan, sabun, pasta gigi, wangi-wangian dan obat-obatan. Minyak atsiri diambil dari berbagai jenis tanaman penghasil minyak atsiri (Rumondang, 2004). Salah satu jenis minyak atsiri adalah minyak nilam (*Pogostemon cablin Benth*), dimana minyak nilam dapat diperoleh melalui proses ekstraksi secara kimiawi dari daun tanaman nilam.

Pembuatan *Essential Oil* dari daun nilam dengan cara ekstraksi kimiawi biasanya dilakukan terhadap bahan berupa bunga, yang jika diisolasi dengan destilasi hanya menghasilkan sedikit minyak (Rumondang, 2004) sedangkan usaha peningkatan nilai tambah hasil tanaman nilam melalui industri penyulingan masih belum optimal (Anonim⁽¹⁾, 2010). Untuk itu kami mengambil permasalahan ini dengan mencoba mengisolasi minyak nilam dari daun nilam menggunakan metode fermentasi dengan menggunakan dua jenis kapang, yaitu *Phanerochaete chrysosporium* yang digunakan untuk memecah vakuola daun secara biologi (biodelignifikasi) karena kemampuannya untuk memecah lignin (Fadilah, *et al*, 2008), (Martina *et al.*, 2002) serta *Trichoderma viride* yang merupakan salah satu jenis kapang tanah yang aktif dalam melakukan dekomposisi lignoselulosa yang diduga akan mempercepat pengeluaran minyak nilam dari dalam vakuola daun (Nasruddin *et al.*, 2009).

Adapun tujuan penelitian ini adalah 1) Mengetahui kondisi operasi yang terbaik dari variabel yang digunakan terhadap minyak nilam yang dihasilkan, 2) Mengetahui pengaruh waktu biodelignifikasi oleh *Phanerochaete chrysosporium* dan jenis daun nilam (kering dan basah) terhadap kualitas minyak nilam yang dihasilkan.

Sedangkan manfaat dari penelitian ini antara lain: Dapat membuat minyak nilam dari daun nilam dengan Metode Fermentasi, dapat mengetahui kemampuan sinergi *Phanerochaete chrysosporium* dan *Trichoderma*

viride dalam mengfermentasi daun nilam untuk menghasilkan minyak nilam, mendapatkan teknologi peningkatan kadar minyak nilam, pengembangan ilmu dan teknologi di bidang bioproses, dan sebagai salah satu referensi bagi pembaca yang akan melakukan penelitian dengan ilmu yang terkait.

Nilam (*Pogostemon Cablin Benth*) adalah suatu tanaman tropis penghasil sejenis minyak atsiri yang dinamakan sama (minyak nilam) yang memberikan peranan penting dalam dunia *flavour* dan *fragrance* terutama untuk industri parfum dan aroma terapi. Di Indonesia terdapat 3 jenis tanaman nilam yaitu *Pogostemon Cablin Benth*, *Pogostemon heyneanus*, *Pogostemon hortensis*.

Minyak nilam adalah minyak atsiri yang diperoleh dari daun, batang dan bunga dengan komponen utamanya adalah *patchoulol* dengan kadarnya mencapai 50-60% (Prawita, 2010). *Patchouli alcohol* merupakan senyawa yang tidak larut dalam air, larut dalam alkohol, eter atau pelarut organik yang lain, titik didih 280,37°C dan kristal yang terbentuk memiliki titik leleh 56°C (Yanyan *et al.*, 2004). Dari beberapa bagian tanaman nilam, kandungan minyak terbanyak terdapat pada bagian daun dan bunga. Minyak yang dihasilkan terdiri dari komponen bertitik didih tinggi seperti *patchouli alcohol*, *patchoulen*, *kariofilen* dan *non patchoulenol* yang berfungsi sebagai zat pengikat (fiksatif) (Ketaren, 1985). Menurut Santoso (1990) kandungan yang terkandung dalam minyak nilam meliputi, *patchouli alcohol* (*patchouli champor*), eugenol, *benzaldehyde*, *cinamic aldehyde*, dan *cadinene*. Jenis minyak nilam bersifat fiksatif, oleh karena itu minyak nilam banyak digunakan oleh industri parfum, sabun dan kosmetika atau obat-obatan, bahkan juga sebagai pestisida (Papilaya, 2009). Umumnya minyak nilam yang baik memiliki kadar PA di atas 30%, berwarna kuning jernih, dan memiliki bau wangi yang khas dan sulit dihilangkan (Prawita, 2010).

Untuk mendapatkan minyak nilam dapat menggunakan teknologi ekstraksi secara kimiawi (ekstraksi) maupun ekstraksi biologi (fermentasi), dimana pada fermentasi digunakan mikroorganisme, baik dalam bentuk kapang, bakteri, dan khamir dalam bentuk kultur murni ataupun alami serta dengan kultur tunggal ataupun kultur campuran (Anonim⁽²⁾, 2007).

Minyak atsiri di buat dengan cara penyulingan (B. Irawan, 2009) dan fermentasi (Nasruddin *et al.*, 2009). Mereka mengisolasi minyak nilam dengan delignifikasi menggunakan NaOH 0,25% pada suhu perebusan dengan variabel suhu 55°C dan 80°C dan dilanjutkan fermentasi dengan *Trichoderma viride* dengan variabel waktu 6 dan 8 hari. Pada variabel pertama menghasilkan berat jenis 0.958 g/cm³ dan indeks bias 1,509, dan variabel ke dua menghasilkan berat jenis 0.962 g/cm³ dan indeks bias 1,515 (Nasruddin *et al.*, 2009).

Jenis kapang yang digunakan dalam penelitian fermentasi daun nilam adalah *Trichoderma viride* dan *Phanerochaete chrysosporium*. *Trichoderma viride* merupakan jamur tanah yang mampu menghancurkan selulosa tingkat tinggi, dengan menghasilkan enzim kompleks selulase. Enzim ini berfungsi sebagai agen pengurai yang spesifik untuk menghidrolisis ikatan kimia dari selulosa dan turunannya. Sedangkan selulase yang dihasilkan *Trichoderma viride* mempunyai kemampuan dapat memecah selulosa menjadi glukosa sehingga mudah dicerna oleh ternak. Selanjutnya *Phanerochaete chrysosporium* merupakan jamur pelapuk putih yang memiliki sifat- sifat antara lain: pendegradasi lignin dan turunannya, tumbuh pada suhu 25°C - 40°C, pH berkisar 4 - 4.5 dan dalam pertumbuhannya memerlukan kandungan oksigen yang tinggi.

Hal ini juga di buktikan oleh Nelson dan Suparjo, yang melakukan penelitian tentang lama fermentasi pada kulit buah kakao menggunakan *Phanerochaete chrysosporium* pada suhu 37°C dan pH 4,37 dapat diketahui laju degradasi selulosa sebesar 31,31% dan laju degradasi lignin sebesar 38,61% (Nelson dan Suparjo, 2011).

2. METODE PENELITIAN

Alat yang digunakan dalam penelitian, antara lain: Oven, autoklaf, desikator, cawan petri, erlen meyer, beaker glass, jarum ose, distilator, tabung reaksi, bunsen, labu ukur, corong pemisah, piknometer, spatula, oil bath, thermometer, pipet, shaker, heater, pompa vacuum, kertas saring.

Bahan yang digunakan, antara lain: daun nilam, *Potato Dextrose Agar*, kapang *Trichoderma viride*, kapang *Phanerochaete chrysosporium*, MgSO₄.7H₂O, KOH, Glukosa, Urea, Ammonium sulfat, KH₂PO₄, FeSO₄.7H₂O, ZnSO₄.7H₂O, n-Heksan, NPK, Etanol 96%, Spiritus.

Variabel berubah yang digunakan dalam penelitian ini adalah jenis daun nilam (kering dan basah), lama biodelignifikasi (2, 4, 6, 8, dan 10 hari). Sebagai variabel tetap adalah waktu fermentasi *Trichoderma viride* selama 6 hari pada suhu 25 – 26 °C, volume *Phanerochaete chrysosporium* yang ditambahkan sebesar 5% sedangkan *Trichoderma viride* sebesar 3% dengan perendaman selama 24 jam pada pelarut n – Hexane.

Penelitian dilakukan melalui 3 tahapan yaitu: 1). Peremajaan kapang *Phanerochaete chrysosporium* dan *Trichoderma viride*, 2). Pembuatan minyak nilam dari daun nilam, dan 3). Uji kualitas minyak nilam.

Peremajaan kapang dilakukan dengan cara menempatkan kapang *Phanerochaete chrysosporium* dan *Trichoderma viride* pada media PDA yang diberi tambahan serbuk daun nilam. Selanjutnya diukur besarnya pertumbuhan kapang dan dibuat kurva pertumbuhannya.

Pada tahap persiapan pembuatan minyak nilam dari daun nilam diawali dengan perlakuan pendahuluan terhadap daun nilam, yang meliputi persiapan ukuran daun nilam dan pengeringan atau pelayuan daun nilam. Sedangkan pada proses pembuatan minyak nilam dilakukan 4 jenis skenario, yaitu: 1). Tanpa sterilisasi dan tanpa incubasi sebelum maupun sesudah biodelignifikasi, 2). Menggunakan sterilisasi sebelum dan sesudah biodelignifikasi dan fermentasi, 3). Skenario 2 disertai penambahan n-hexana leaching 4). Skenario 2 disertai proses pemurnian dengan etanol.

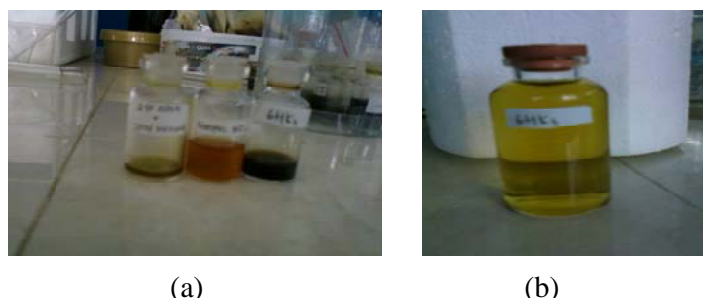
Pembuatan minyak nilam dari daun nilam dimulai dengan proses fermentasi daun nilam dengan menggunakan jamur *Phanerochaete chrysosporium* untuk dihilangkan ligninnya (proses biodelignifikasi) kemudian dilanjutkan fermentasi dengan jamur *Trichoderma viride*. Daun hasil dari fermentasi tersebut kemudian diekstraksi yang sebelumnya telah direndam menggunakan *hexane* selama 24 jam, setelah itu baru dilakukan proses penyulingan. Variabel yang digunakan dalam pembuatan minyak nilam dari daun nilam ini adalah waktu fermentasi biodelignifikasi menggunakan jamur *Phanerochaete chrysosporium* sebesar 2, 4, 6, 8, dan 10 hari dan kondisi daun nilam (basah dan kering). Minyak nilam yang didapat, dianalisis menggunakan Gas Chromatografi (GC) untuk mengetahui kadar PA, refraktometer untuk mengetahui indeks bias dan dilakukan pengujian terhadap pengukuran kadar lemak.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengukuran sample yang berupa nilai indeks bias, dan kadar *Patchouli Alcohol* selanjutnya disajikan dalam bentuk grafik.

Perlakuan pendahuluan terhadap daun nilam dilakukan dengan beberapa cara yaitu dengan pengecilan ukuran, pengeringan atau pelayuan dan fermentasi (Ketaren, 1985). Proses tersebut perlu dilakukan karena minyak atsiri di dalam tanaman dikelilingi oleh kelenjar minyak, pembuluh-pembuluh, kantong minyak atau rambut gladular. Apabila daun nilam dibiarkan utuh, kecepatan pengeluaran minyak hanya tergantung dari proses difusi yang berlangsung sangat lambat. Pengecilan ukuran daun biasanya dilakukan dengan pemotongan atau perajangan. Perlakuan ini bertujuan agar kelenjar minyak dapat terbuka sebanyak mungkin sehingga memudahkan pengeluaran minyak dari bahan. Akan tetapi ukuran bahan yang terlalu kecil juga menyebabkan banyak minyak *volatile* yang menguap selama penghancuran (Ridho *et al.*, 2011). Sedangkan pelayuan dan pengeringan bertujuan untuk menguapkan sebagian air dalam bahan sehingga penyulingan berlangsung lebih mudah dan lebih singkat (Ketaren, 1985). Daun nilam yang telah dikeringkan selama 5-6 hari ditentukan kadar airnya. Kadar air yang baik berkisar 12-15% (Mohammad, 2009). Hasil pengukuran kadar air menunjukkan bahwa daun nilam yang telah dikeringkan sudah memenuhi syarat untuk dilanjutkan pada proses fermentasi, sedangkan pada daun nilam basah tidak dilakukan proses pelayuan atau pengeringan. Hal ini bertujuan agar dapat dilakukan perbandingan hasil antara penggunaan daun nilam basah dan daun nilam kering.

Pada proses pembuatan *essensial oil* (minyak nilam) dengan proses fermentasi oleh kapang *Phanerochaete chrysosporium* dan *Trichoderma viride* yang diikuti dengan proses leaching dan distilasi diperoleh hasil minyak nilam sebagaimana gambar 1.



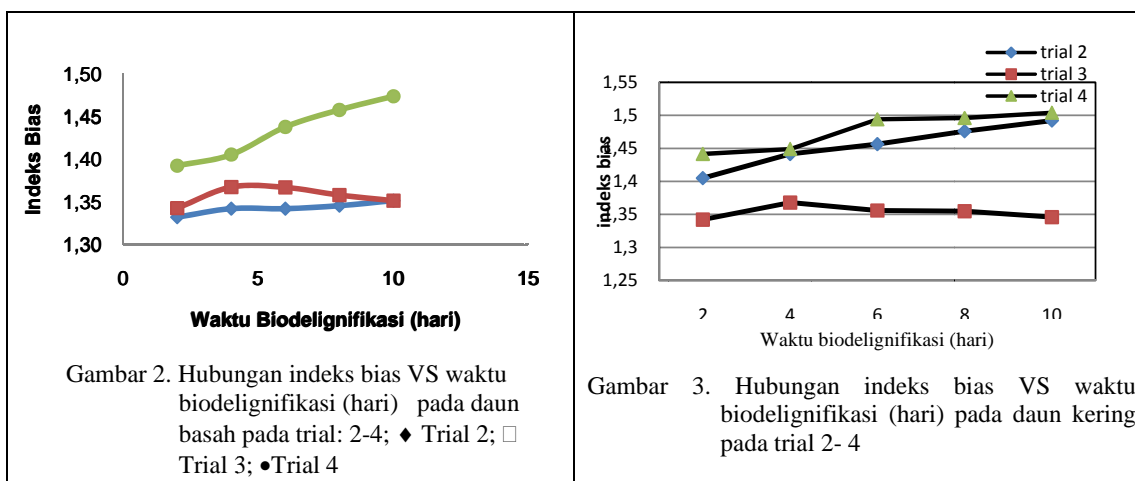
Gambar 1. (a) Minyak nilam sebelum dilakukan proses pemurnian; (b) Minyak nilam sesudah dilakukan proses pemurnian

Penggunaan *Phanerochaete chrysosporium* pada tahap awal fermentasi bertujuan untuk biodelignifikasi, dimana melalui biodelignifikasi minyak nilam yang berada dalam vakuola daun dapat terambil. Vakuola ini terletak di tengah-tengah sel yang dikelilingi oleh dinding sel. Penyusun dari dinding sel tersebut yakni lignin, hemiselulosa dan selulosa. Oleh karena itu perlu dilakukan proses pemecahan lignin (delignifikasi) terlebih dahulu agar vakuola dapat terpecah. Proses delignifikasi ini dapat dilakukan dengan bantuan mikroorganisme (biodelignifikasi), senyawa alkali ataupun sinar-UV. Dalam proses delignifikasi ini,

yang dipilih adalah menggunakan bantuan mikroorganisme, yakni kapang *Phanerochaete chrysosporium*. Pemilihan kapang ini berdasarkan literatur yang menyatakan bahwa kapang *Phanerochaete chrysosporium* dapat mendegradasi lignin dan senyawa turunannya secara efektif dengan cara menghasilkan enzim berupa lignin peroksidase (LiP) dan mangan peroksidase (MnP) (Suparjo, 2008). Karena kemampuannya dalam mendegradasi selulosa kurang efektif, maka dibantu dengan kapang *Trichoderma viride* agar proses delignifikasi berjalan maksimal.

Minyak nilam yang dihasilkan dari proses penyulingan merupakan minyak nilam yang masih mengandung zat pengotor yang biasa disebut minyak kongkret, untuk itu perlu dilakukan pemurnian dari zat pengotor dengan menggunakan etanol. Minyak yang sudah dilakukan proses pemurnian disebut minyak absolut. Dari hasil analisa keseluruhan trial yang digunakan, menunjukkan perbedaan yang sangat signifikan. Hal ini dikarenakan adanya perlakuan yang berbeda, baik pada fermentasi ataupun *leaching* yaitu pengaruh banyaknya penambahan pelarut maupun nutrisi, dimana pada *leaching* perbedaan terletak pada penambahan heksan, yaitu untuk trial 2 400 ml heksan diberikan setelah fermentasi (fermentasi fase padat) tanpa pemisahan air dan daun, untuk trial (3) 400 ml heksan diberikan setelah fermentasi (fermentasi kultur terendam) tanpa pemisahan air dan daun, untuk trial (4) 450 ml heksan diberikan setelah fermentasi (fermentasi semi padat) dengan pemisahan air dan daun serta dilakukan proses tambahan, yaitu pemurnian dari zat pengotor.

Hasil pengukuran terhadap kualitas minyak nilam yang dihasilkan dari proses fermentasi, leaching dan distilasi yang meliputi parameter nilai indeks bias, kadar lemak, dan kadar *patchouli alcohol* ditunjukkan pada gambar 2, 3, 4, dan 5.



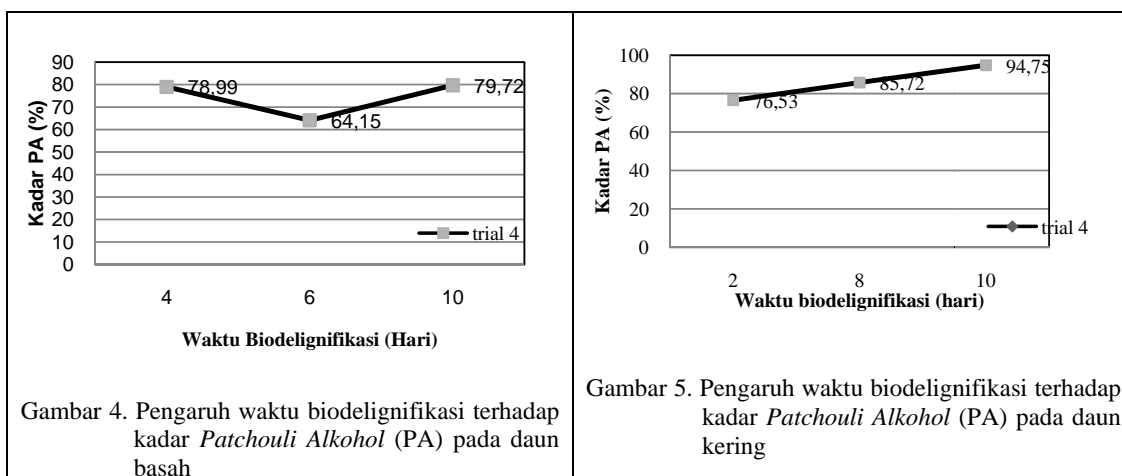
Dari gambar 2 dan gambar 3 dapat dilihat bahwa indeks bias tertinggi sebesar 1.50415 untuk daun kering pada trial ke-4 dengan waktu biodelignifikasi 10 hari, sedangkan pada daun basah indeks bias tertinggi sebesar 1.47395 pada trial ke-4 dengan waktu biodelignifikasi 10 hari. Indeks bias untuk daun nilam kering trial ke-4 telah memenuhi syarat mutu minyak nilam yaitu sebesar 1.5050. Hal ini dikarenakan pada trial ke-4 merupakan trial perbaikan dari trial sebelumnya baik dari perlakuan pengondisian air, nutrisi, *leaching* serta dilakukan perlakuan tambahan terhadap produk yaitu pemurnian dari zat pengotor. Waktu biodelignifikasi juga berpengaruh terhadap indeks bias yang didapatkan. Terlihat bahwa semakin lama waktu biodelignifikasi, indeks bias yang didapat juga semakin tinggi. Hal ini dikarenakan kapang *Phanerochaete chrysosporium* dapat mendegradasi lignin dan berbagai polutan aromatik selama fase pertumbuhan *stationery* (Suparjo, 2008). Dari kurva pertumbuhan *Phanerochaete chrysosporium* fase *stationery* tampak pada jam ke 192-240 sehingga dengan waktu biodelignifikasi 10 hari semakin banyak lignin yang terpecah maka semakin banyak pula fraksi berat yang mempunyai rantai karbon panjang terambil.

Semakin banyak komponen berantai panjang seperti sesquiterpen atau komponen bergugus oksigen ikut tersuling, maka kerapatan medium minyak atsiri akan bertambah sehingga cahaya yang datang akan lebih sukar untuk dibiaskan. Hal ini menyebabkan indeks bias minyak lebih besar. Semakin banyak kandungan airnya, maka semakin kecil nilai indeks biasnya. Hal ini disebabkan sifat dari air yang mudah untuk membiaskan cahaya yang datang. Dengan demikian minyak atsiri dengan nilai indeks bias yang besar lebih berkualitas dibandingkan dengan minyak atsiri dengan nilai indeks bias yang kecil.

Berdasarkan hasil percobaan juga menunjukkan bahwa nilai indeks bias daun nilam yang berisi *Phanerochaete chrysosporium* dan *Trichoderma viride* tidak berbeda jauh, *Phanerochaete chrysosporium*

memiliki nilai indeks bias lebih tinggi dibandingkan *Trichoderma viride*. Ini membuktikan bahwa *Phanerochaete chrysosporium* dapat bekerja sendiri dalam menghasilkan minyak nilam tanpa bantuan dari *Trichoderma viride* (perlu penelitian lebih lanjut). Namun waktu fermentasi harus diperlama, ini sesuai dengan jurnal yang menyatakan bahwa semakin lama waktu biodelignifikasi, maka semakin banyak pula lignin yang terpecah (Solar *et al.*, 2008).

Pada pengukuran kadar lemak dalam minyak nilam menunjukkan bahwa sebagian besar minyak yang dihasilkan pada trial 2 dan 3 keruh pada saat dilarutkan dalam etanol karena pada trial ini tidak dilakukan proses pemurnian sehingga masih ada zat pengotor (lemak dan lilin) yang terkandung dalam minyak. Berbeda dengan trial 4 yang telah dilakukan pemurnian minyak terlihat jernih dan tidak terdapat endapan yang mengindikasikan adanya zat pengotor. Hal ini telah sesuai dengan syarat mutu minyak nilam yang menyatakan bahwa kandungan lemak dalam minyak nilam adalah negatif.



Pada gambar 4 dan gambar 5 disajikan grafik hubungan antara kadar PA dengan waktu biodelignifikasi pada daun basah dan daun kering. Pada gambar 4 yaitu pada daun basah hasil kadar PA tertinggi terlihat pada waktu biodelignifikasi 10 hari diperoleh kadar PA 79.72 % demikian juga pada gambar 5 hasil diperoleh kadar PA tertinggi pada waktu biodelignifikasi 10 hari diperoleh kadar PA 94.75 %, sehingga dari variabel waktu delignifikasi semakin lama waktunya semakin tinggi kadar PA yang diperoleh tapi sampai batasan waktu belum diketahui (bisa dilanjutkan penelitian ini)

Pengukuran kadar *patchouli alcohol* dalam minyak nilam menggunakan Gas Chromatography (GC), dimana sebelum diujikan minyak nilam tersebut dipreparasi menggunakan etanol. Dari kromatogram yang didapat terlihat persentase area terbesar setelah etanol terletak pada menit ke 8, yakni sebesar 44.58%. Hasil inilah yang dijadikan acuan dalam pengujian minyak nilam yang didapat dari penelitian. Hasil percobaan menunjukkan bahwa kadar *patchouli alcohol* tertinggi diperoleh pada trial 4 dengan waktu biodelignifikasi menggunakan *Phanerochaete chrysosporium* selama 10 hari dan *Trichoderma viride* selama 6 hari pada daun nilam kering sebesar 94.75%.

4. KESIMPULAN

Dari penelitian yang dilakukan, dapat disimpulkan bahwa kualitas minyak nilam terbaik yaitu kadar PA 94.75%, indeks bias tertinggi 1.50415, kadar lemak negative, diperoleh pada penggunaan daun nilam kering dengan metode fermentasi semi padat, menggunakan kombinasi jamur *Phanerochaete chrysosporium* dan *Trichoderma viride*, waktu biodelignifikasi dengan *Phanerochaete chrysosporium* selama 10 hari dan fermentasi *Trichoderma viride* selama 6 hari dengan pemberian nutrisi berlebih, dan perendaman selama 24 jam menggunakan heksan serta pemurnian dengan etanol.

UCAPAN TERIMA KASIH

Pada kesempatan ini saya mengucapkan terimakasih kepada Vebina dan Feraro mahasiswa jurusan Teknik Kimia Politeknik Negeri Malang yang telah banyak membantu pada penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Akhtar, Robert, Blanchette, and Kent. 1997. *Fungal Delignification and Biochemical Pulping of Wood*. USA : Departement Of Plant Pathology, University of Minnesota
- Anonim ⁽¹⁾. 2010. *Pohon Industri Minyak Atsiri*. (<http://binaukm.com/2010/04/pohon-industri-minyak-atsiri/>, diakses pada 29 November 2010)
- Anonim ⁽²⁾. 2007. *Fermentasi*. (<http://ptp2007.wordpress.com/2007/10/08/fermentasi/> , diakses pada 1 Januari 2011)
- Aslam, Ridho, dkk. 2011. *Adsorpsi dengan Lemak Padat (Enfleurasi) dan Ekstraksi dengan Pelarut*. Bogor : Fakultas Teknologi Pertanian IPB
- Bulan, Rumondang, 2004. *Esterifikasi Patchouli Alkohol Hasil dari Minyak Daun Nilam (Patchouli Oil)*. Sumatra utara : Universitas Sumatera Utara
- Emmyar, Ferry, Yulius. 2004. *Pola Budidaya Untuk Peningkatan Produktivitas dan Mutu Minyak Nilam*. (<http://www.scribd.com/doc/1184458/Produktivitas-Minyak-Nilam>, diakses pada 10 Februari 2011)
- Fadilah dan Sperisa, D. 2009. “*Delignifikasi Ampas Batang Aren: Perbandingan Pengaruh Penambahan Glukosa dengan Penambahan Tetes*”. Surakarta: Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Sebelas Maret.
- Fadilah, Sperisa, D., Enny, K. A., dan Arif, J. 2008. “*Biodelignifikasi Batang Jagung dengan Jamur Pelapuk Putih Phanerochaete Chrysosporium*”. Surakarta: Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik, UNS.
- Ketaren, S., 1985. *Pengantar teknologi minyak atsiri*. Balai Pustaka: Jakarta.
- Nelson dan Suparjo. 2011. “*Penentuan Lama Fermentasi Kulit Buah Kakao dengan Phanerochaete Chrysosporium: Evaluasi Kualitas Nutrisi Secara Kimiawi*”. Jambi: Laboratorium Makanan Ternak, Fakultas Peternakan Universitas Jambi.
- Martina, Atria, dkk. 2002. *Optimasi Beberapa Faktor Fisik Terhadap Laju Degradasi Selulosa Kayu Albisia (Paraserianthes falcataria(L.) Nielsen Dan Karoksimetil selulosa(CMC) Secara Enzimatis Oleh Jamur*. Riau : Universitas Riau
- Mey's. 2009. *Trichoderma Viride, sebagai Salah Satu Jamur yang Menguntungkan*. (<http://mey46lovers.blogspot.com/2009/03/trichoderma-viride-sebagai-salah-satu.html>., diakses 4 Februari 2011)
- Nasruddin, Priyanti, Gatot dan, Hamzah Basuni. 2009. *Pengaruh Delignifikasi Daun Nilam (Pogostemon cablin benth) dengan Larutan NaOH dan Fermentasi dengan Kapang Trichoderma viride Terhadap minyak Hasil Penyulingan*, 94 – 102. (<http://jri.bpkimi.kemenperin.go.id>, diakses pada 9 Januari 2011)
- Nurhayati. 2004. *Optimasi Kondisi Fermentasi dan Ekstraksi Minyak Atsiri dari Daun Nilam (Pogostemon cablin (blnco) benth.) dengan Menggunakan Kapang Rhizopus Stolonifer (Ehrenberg ex Fr.) Lindner dan R. Arrhizus (Fischer)*. (<http://digilib.itb.ac.id>, diakses pada 24 Desember 2010)
- Papilaya, Marisca. 2009. *Pengambilan Minyak Atsiri Dari Daun Nilam*. (<http://mariscapapilaya.blogspot.com/>, diakses pada 1 Desember 2010)
- Prasetyo, Arief Budi. 2011. *Formulasi Anti Nyamuk Spray Menggunakan Bahan Aktif Minyak Nilam*. Bogor : Institut Pertanian Bogor
- Prawita, Dewi. 2010. *Industri Nilam dan Pemasarannya*, (<http://blogs.unpad.ac.id/dewiprawita/2010/06/>, diakses pada 1 Desember 2010)
- Rulianah, Sri. 2005. *Teknologi Bioproses*. Malang : Politeknik Negeri Malang
- Semesta, Harmoni. 2009. *Spesifikasi Nilam*. (<http://harmonisemesta.blogspot.com/2009/10/spesifikasi-nilam.html>, diakses pada 29 November 2010)
- Septa, Mohammad. 2009. *Resume Penelitian “Kualitas Minyak Nilam Sebagai Tanaman sela Pada areal Lahan Hutan Rakyat di Desa Cibojong*. (<http://septa-ayatullah.blogspot.com/2009/04/resume-dari-penelitian-kualitas-minyak.html>, diakses pada 6 Februari 2011)
- Suparjo. 2008. <http://jajo66.wordpress.com/2008/10/15/Degradasi-Komponen-Lignoselulosa> [Di Akses 20 Maret 2012].
- Yanyan, Zainuddin, Achmad dan, Dadan. 2004. *Peningkatan Kadar Patchouli Alkohol Dalam Minyak Nilam (Patchouli Oil) dan Usaha Derivatisasi Komponen Minornya*, (<http://minyakatsiriindonesia.wordpress.com/atsiri-nilam/yanyan-f-n-dkk/>, diakses pada 26 Desember 2010)
- Yudistira, Adi, dkk. 2008. *Kristalisasi Minyak Nilam Melalui Peningkatan Kadar Patchouli Alkohol dengan Metode Destilasi Vacum, Destilasi Uap, dan Destilasi dengan Metode Aerasi*. Surabaya : Institut Teknologi Sepuluh November